

Artículo original

Estudio de la composición química de los aceites esenciales de las hojas y flores de *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br. (Lamiaceae).

Study of the chemical composition of the essential oils from leaves and flowers of *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br. (Lamiaceae).

Araque Emmanuel¹, Urbina Daniela¹, Morillo Marielba^{1*}, Rojas-Fermín Luis¹, Carmona Juan²

¹Instituto de Investigaciones, ²Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes, Mérida C.P. 5101, República Bolivariana de Venezuela.

Recibido: Julio de 2018 – Aceptado: septiembre de 2018

RESUMEN

Leonotis nepetifolia (L.) R. Br., es una especie perteneciente a la familia Lamiaceae. Los aceites esenciales de las hojas y flores frescas, fueron aislados por hidrodestilación empleando la trampa de Clevenger con un rendimiento de 0,01 y 0,012 % respectivamente. Su composición química fue determinada por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM). Los componentes mayoritarios en el aceite de las hojas fueron germacreno-D (36,2 %), β -cariofileno (13,8 %) y α -humuleno (9,9 %), mientras que, germacreno-A (16,9 %), germacreno-D (13,7 %) y β -elemeno (13,7 %) son los componentes mayoritarios en las flores. Este sería el primer reporte de la composición del aceite esencial de las flores de esta especie.

PALABRAS CLAVE

Lamiaceae, *Leonotis nepetifolia*, aceite esencial, germacreno-D.

ABSTRACT

Leonotis nepetifolia (L.) R. Br., is a species of the Lamiaceae family. The essential oils of fresh leaves and flowers were isolated by hydrodistillation, using a Clevenger trap, yielding 0.01 and 0.012 %,

respectively. Its chemical composition was determined by GC-MS. The major constituents on the leaves were germacrene-D (36.2 %), β -caryophyllene (13.8 %) and α -humulene (9.9 %) while germacrene-A (16.9 %) germacrene-D (13.7 %) and β -elemene (13.7 %) were observed as main components on the flowers. This would be the first report on the essential oil composition of the flowers.

KEY WORDS

Lamiaceae, *Leonotis nepetifolia*, essential oil, germacrene-D.

INTRODUCCIÓN

La familia Lamiaceae incluye 236 géneros y 7173 especies [1], muchos de los cuales son arbustos, raras veces árboles o bejucos. Además, están distribuidos en varios países alrededor del mundo [2].

En Venezuela la Familia Lamiaceae está integrada por 21 géneros y 80 especies que se distribuyen en todo el país, entre 20 y 3600 m.s.n.m. Sus usos tienen gran importancia económica mundial, ya que básicamente en todos los continentes y culturas el hombre ha utilizado numerosas especies de esta familia, bien como medicinas, condimentos o más extraordinariamente como alimento, también han sido usadas en numerosos casos como plantas ornamentales, muy apreciadas por sus flores y su aroma, tienen interés en diversas industrias como:

perfumería, licorería, confitería, productos cosméticos y detergentes [3,4].

Inicialmente, se describieron 41 especies para el género *Leonotis* (Pers.) R. Br., aunque algunos autores consideran que sólo hay 15 especies en este género. Sin embargo, estudios más recientes, redujeron ese número a 10 especies genuinamente africanas, con algunas pocas variedades [5].

Naidoo y col. (2010) [6] refieren que el género *Leonotis* (Pers.) R. Br. comprende alrededor de 10 especies, y ha sido colocado dentro de la subfamilia Lamioideae de las Lamiaceae. Los miembros del género varían en hábito de hierbas altas a pequeños árboles.

En este género destacan las siguientes especies: *Leonotis leonorus*, *Leonotis nepetifolia*, *Leonotis dysophylla*, *Leonotis dubia*, *Leonotis ocyimifolia* var *raineriana*, *Leonotis leonotis*, *Leonotis leonotis* var *hirtiflora*. Probablemente la especie de este género más usada en medicina popular en África, India, Caribe, América del Sur es *L. nepetifolia*, a esta especie se atribuye una variedad de efectos farmacológicos, que despiertan el interés para determinar su perfil fitoquímico [7].

Velázquez (1997) [3] describió el género de la siguiente manera: Hierbas de hasta 2 m, erectas, frecuentemente no ramificadas, ligeramente aromáticas. Así mismo, señaló que están ampliamente distribuidas en Anzoátegui, Aragua, Barinas, Bolívar, Carabobo, Cojedes, Delta Amacuro, Distrito Federal, Falcón, Lara, Mérida, Miranda, Portuguesa, Sucre, Táchira, Trujillo, Yaracuy y Zulia. Se encuentra en lugares abiertos, sombreados, alterados o inundados, bosque seco y bosques de galería, entre 5 y 1500 m.s.n.m.

Entre los estudios realizados sobre el género, el primer reporte, sobre aislamiento de compuestos químicos, ocurrió en 1962 a partir de la especie *L. leonorus* (L.) R. Br. A partir de estos descubrimientos los estudios avanzaron sobre las otras especies pertenecientes al género [7].

Leonotis nepetifolia (L.) R. Br., es nativa de África tropical y sur de la India, es una planta herbácea silvestre perteneciente a la familia Lamiaceae, generalmente crece en parches a lo largo de terrenos baldíos, en la carretera o terrenos estériles durante la temporada de lluvias [8]. Debido a la forma de la hoja esta planta es conocida como cola de león, molinillo o mastranto; en África del Sur y las Indias occidentales se conoce como klip dagga, oreja de León, navidad y candelabro [8,9]; en Brasil, es conocida como "bastón de San Francisco" [10].

L. nepetifolia, en el estado Mérida se ha empleado como: antiséptica, tónico, febrífuga y diurética [11], estimulante, sudorífica, antiespasmódica, relajante de los músculos lisos; béquica, antiasmática, febrífuga, estomáquica, antiulcerosa, antiinflamatoria del tracto urinario, antigotosa, antirreumática, contra golpes, tiene acción antimicrobiana sobre el *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus* [12].

Trivedi y col., (2011) [8] afirmaron que las raíces de la planta han sido utilizadas para el asma, bronquitis, fiebre y condiciones venenosas. En la India las semillas se utilizan en quemaduras, mientras que en Trinidad y Tobago las hojas se han utilizado en casos de diabetes, asma y tos.

Estudios demuestran que *L. nepetifolia*, reporta la presencia de varios compuestos de la serie del labdano [13]; quercetina, cumarinas [14]; glicósidos feniletanoides; iridoideos glucosidos [15]; y otros compuestos diterpenoides [7]. Li y col (2012) [16], determinaron la presencia de 10 nuevos bis-espirolabdano diterpenoides, junto con 8 nuevos labdanos diterpenoides, además de dos flavonoides ya conocidos (apigenina y cirsiol).

En el aceite de las semillas se determinaron ácidos grasos: oleico (43,2 %), labalénico (18,4 %), palmítico (15,0 %), linoleico (13,4 %), y esteárico (5,7 %) [17]; En el aceite fijo del espécimen silvestre identificaron 16 compuestos, donde linoleato de metilo (46,98 %) fue el compuesto mayoritario [18].

En cuanto a la composición del aceite esencial de *L. nepetifolia*, Thoppil y José (1995) [19], reportaron en la especie, recolectada al sur de la India: acetato de eugenol, piperitona, piperitinona, metil isoeugenol, acetato de citronelilo, óxido de piperitona y eugenol como componentes mayoritarios.

En la planta obtenida de África (Rwanda) Muhayimana y col. (1998) [20], identificaron como componentes mayoritarios, germacreno D (41,2 %), β -cariofileno (10,3 %) y selineno (6,8 %).

Oyedeyi y col. (1999) [21] en Nigeria, obtuvieron como componentes mayoritarios β -cariofileno (20,6 %), α -humuleno (12,1 %), germacreno-D (8,6 %), oxido de cariofileno (7,5 %), β -elemeno (4,0 %) y β -copaeno (3,4 %).

Rojas y col. (2007) [22], estudiaron el aceite esencial de las hojas de *L. nepetifolia*, recolectada en Mérida, Venezuela y lograron identificar como compuestos mayoritarios el germacreno-D (40,7 %), β -cariofileno (16,0 %) y α -humuleno (10,9 %) compuestos pertenecen a la serie sesquiterpenica y representó 67,6 % del total del aceite.

El objetivo del presente trabajo fue determinar los componentes volátiles de los aceites esenciales de hojas y flores de *L. nepetifolia* recolectada en el estado Mérida, Venezuela. Y de esta forma hacer una comparación con la composición de las hojas reportado por Rojas y col. [22] y contribuir con la composición del aceite esencial de las flores de esta especie.

MATERIAL Y MÉTODOS

Recolección del material vegetal

Se recolectó el material vegetal en el sector Salado Alto, vía Jají, municipio Campo Elías estado Mérida, se tomó una muestra para ser depositada en el herbario MERF, “Dr. Luis Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis (Voucher N° 01 de fecha 23-11-15).

La identificación botánica fue realizada por el Ing. Juan Carmona (Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA).

Obtención del aceite esencial de *Leonotis nepetifolia*

Para la extracción y separación del aceite esencial, se recolectó 1500 g de la planta (980 g de hojas y 520 g de flores) se licuaron por separado, el aceite esencial de cada uno se extrajo por hidrodestilación utilizando una trampa de Clevenger. Los aceites esenciales de hojas y flores, se retomaron utilizando una pipeta Pasteur, y se colocaron en tubos limpios y secos, se adicionó a cada uno una pequeña cantidad de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) para eliminar el agua, como el rendimiento de los aceites no fue alto se retomó cada uno con n-heptano.

Los aceites esenciales se analizaron por cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas Hewlett Packard 5973 a 70 e.V., provisto de un inyector automático, utilizando una columna capilar HP-5MS (30 m, 0,25 mm, 0,25 μm). Para el análisis cromatográfico, se tomó una muestra de 1,0 μL , del aceite esencial en n-heptano, con reparto de 1:1, utilizando helio como gas portador, a un flujo de 1 mL/min. Las condiciones utilizadas fueron las siguientes: temperatura inicial 60 °C, temperatura final 260 °C; gradiente de temperatura 4 °C/min; tiempo

total de análisis 50 min; temperatura del inyector 250 °C; temperatura de la interface 280 °C.

La identificación de los componentes se realizó mediante comparación computarizada de los espectros obtenidos con la Librería Wiley y NIST (6ta Edición). Además, se comprobó que los índices de Kovats (IK) calculados para los componentes de los aceites coinciden con los reportados en la literatura [23]. Se utilizó una mezcla de *n*-alcanos (C_{11} - C_{14}) marca Alltech.

RESULTADOS

Composición química de los aceites esenciales de las hojas y flores de *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br.

Los aceites esenciales fueron obtenidos a partir de las hojas y flores frescas de *L. nepetifolia* (L.) R. Br., con un rendimiento de 0,01 y 0,012 % respectivamente, su composición química fue determinada por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM), logrando identificar 26 compuestos en las hojas (96,7 % del total de la mezcla) y 22 compuestos en las flores (92,1 % del total de la mezcla) (Tabla 1). Donde los componentes mayoritarios identificados fueron germacreno-D (36,2 %), β -cariofileno (13,8 %) y α -humuleno (9,9 %) en las hojas y germacreno-A (16,9 %) germacreno-D (13,7 %) y β -elemeno (13,7 %) en las flores.

DISCUSIÓN

Este estudio guarda similitud con los resultados presentados por Muhaminana y col (1998) [20] quienes obtuvieron germacreno D (41,2 %) y β -cariofileno (10,3 %) en la especie proveniente de África; Así como los resultados publicados por Rojas y col (2007)[22] quienes reportaron germacreno-D (40,7 %) y β -cariofileno (16,0 %) y α -humuleno (10,9 %), como componentes mayoritarios.

Con el aporte de Rojas y col [22], existe similitud en cuanto al área geográfica de recolección de la planta, sin embargo, existe divergencia en cuanto al número de componentes identificados en las hojas, ya que en el presente trabajo se identificaron 26 compuestos en las hojas.

Además, en nuestro estudio se determinó en las flores 22 compuestos volátiles, siendo los mayoritarios

germacreno-A (16,9 %) germacreno-D (13,7 %) y β -elemeno (13,7 %) (Tabla 1).

Por otra parte, nuestra investigación difiere de la realizada por Thoppil y Jose (1995) [19] y Oyedeji y col. (1999) [21], quienes reportaron componentes mayoritarios diferentes a los identificados en este estudio, lo que indica que serían variedades diferentes.

Es posible que las diferencias en los resultados, se deban al área geográfica de recolección y los factores ambientales que difieren con esta investigación, aunque, existen factores que afectan el rendimiento y

la composición química del aceite esencial, principalmente la diversidad genética, pueden afectar la producción de metabolitos secundarios que actúan como una interfaz química entre las plantas y el ambiente, los estímulos ambientales pueden redirigir la ruta de biosíntesis cambiando la composición química, producción y actividad biológica de los aceites esenciales en las plantas, tales como interacción planta-microorganismo, planta-insecto o planta-planta [24].

TABLA 1

Componentes volátiles presentes en los aceites esenciales de las hojas y flores de *Leonotis nepetifolia*.

Pico	Compuesto	TR (min)	Hojas Área %	Flores Área %	IK cal
1	2-Butanodiol	3,25	-	1,2	812
2	α -Copaeno	18,69	1,5	-	1377
3	β -Bourboneno	18,98	0,5	-	1385
4	β -Elemeno	19,21	5,3	13,7	1392
5	β -Cariofileno	20,11	13,8	4,1	1422
6	α -Humuleno	21,15	9,9	5,1	1459
7	γ -Muuroleno	21,79	-	1,0	1480
8	α -amorfenol	21,87	1,5	-	1483
9	Germacreno-D	22,06	36,2	13,7	1489
10	β -Selineno	22,15	0,5	1,3	1492
11	Biciclogermacreno	22,43	4,0	2,6	1501
12	α -Muuroleno	22,54	0,6	-	1505
13	Germacreno A	22,73	5,50	16,9	1511
14	Butilato hidroxitolueno	22,86	-	1,3	1515
15	γ -Cadineno	22,99	2,4	1,1	1519
16	δ -Cadineno	23,20	3,2	4,2	1526
17	Elemol	23,95	0,3	-	1549
18	Germacreno D- 4-ol	24,74	0,6	-	1572
19	Espatuleno	24,80	0,2	-	1574
20	Oxido de cariofileno	24,98	1,0	1,1	1579
21	Viridiflorol	25,22	0,2	-	1586
22	Globulol	25,57	0,9	-	1594
23	Humuleno epóxido II	25,73	0,5	-	1601
24	Cubenol-1-epi	26,23	0,3	-	1622
25	Epi- α -muurolol	26,56	2,8	-	1636
26	T-Muurolol	26,62	-	3,2	1638
27	α -Cadinol	26,97	1,4	6,7	1652
28	Mintsulfuro	29,23	0,2	-	1739
29	Ácido hexadecanoico	34,80	1,1	6,0	1972
30	Heneicosano	37,96	-	0,9	2098
31	Fitol	38,29	2,3	2,2	2110
32	Ácido oleico	38,82	-	0,9	2130
33	Docosano	40,17	-	1,3	2179
34	Tricosano	42,30	-	2,0	2254
35	Pentacosano	46,28	-	1,6	2477
Total identificado			96,7	92,1	

TR: Tiempo de retención; IK cal: Índice de Kovats calculado

El germacreno-D componente mayoritario tanto en hojas y flores de *L. nepetifolia*, juega un papel importante como precursor de muchos otros sesquiterpenos, se producen típicamente en un

determinado número de plantas lo cual contribuye en sus propiedades antimicrobianas e insecticidas [25,26].

También, el germacreno D (componente mayoritario) da origen, por oxidación a una serie de

compuestos de tipo lactónico que producen reacciones citotóxicas o alérgicas en la piel [22].

Cabe destacar que a los compuestos sesquiterpénicos como el germacreno D, β -cariofileno, α -humuleno, β -elemeno se les atribuye actividad antimicrobiana [27,28,29].

CONCLUSIONES

En el aceite esencial de las hojas de *L. nepetifolia* se logró identificar 26 componentes volátiles, siendo los mayoritarios: germacreno-D (36,2 %), β -cariofileno (13,8 %) y α -humuleno (9,9 %). En las flores se identificaron 22 compuestos volátiles, siendo los mayoritarios germacreno-A (16,9 %) germacreno-D (13,7 %) y β -elemeno (13,7 %). Este sería el primer reporte de composición del aceite esencial en flores de esta especie.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Rosa Aparicio, del Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, ULA, por la ayuda prestada en el procesamiento de las muestras.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] Harley RM, Atkins S, Budantsev AL, Cantino PD, Conn BJ, Grayer R, Harley MM, *et al.* In Labiatae. The families and genera of vascular plants VII. Flowering plants dicotyledons: lamiales (except acanthaceae including Avicenniaceae), Kubitzki K, Kadereit JW (eds.). Springer, Berlin; 2004. p. 167-275.

[2] Martínez GM, Fragoso MI, García DR, Montiel O. Géneros de Lamiaceae de México, diversidad y endemismo, Rev Mex Biodivers. 2013; 84(1): 30-86.

[3] Velázquez D. Clave para los géneros de Lamiaceae en Venezuela, Acta Bot Venez. 1997; 20(1): 1-42.

[4] Izco J, Barrero E, Brugués M, Costa M, Devesa J, Fernández F, Gallardo T, Llimona X, Salvo E, Talavera S, Valdes B. (2004). Botánica. 2da ed. Madrid: Editorial McGraw-Hill. Interamericana; 2004. p. 920.

[5] Cruz VB, Manrique L, Dias H, Realino de Paula J, Paulino N. *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br. (cordão-de-frade): biología e uso tradicional. Rev. Pesq. Inov. Farm. 2011; 3(1): 15-28.

[6] Naidoo D, Maharaja V, Crouch N, Ngwanec A. Nuevos diterpenoides de tipo labdano de las hojas de *Leonotis leonurus*. Biochem Syst Ecol. 2010; 39: 216-219

[7] Piozzi F, Bruno M, Rosselli S, Maggio A. Structure and Biological Activity of the Furan-

diterpenoids from the Genera *Leonotis* and *Leonorus*. Heterocycles. 2007; 74: 31-52.

[8]. Trivedi A, Sethiya NK, Mishra SH. Preliminary pharmacognostic and phytochemical analysis of "Granthika" (*Leonotis nepetaefolia*): An ayurvedic herb. Indian J Tradit Know, 2011; 10(4): 682-8.

[9] Schnee L, Leal F, Benítez C. El manual de plantas comunes de Venezuela de Ludwig Schnee. Ediciones de la Facultad de Agronomía UCV. Colección Botánica; 2010. P. 490-491.

[10] Oliveira AP, Guimarães AL, Pacheco AG, Araújo CS, Oliveira RG, Lavor EM, Almeida JR. Estudio fitoquímico, atividade antimicrobiana e citotóxica de espécies de *Leonotis nepetifolia* L. R. (Br). Química Nova. 2016; 39(1): 32-37.

[11] Velázquez D, De Arrijoja E, Tillett S. Usos populares de Lamiaceae en Venezuela. Acta Bot Venez. 1995; 18(1-2):5-20.

[12] Rigobello A, Carvalho F, Yugoshi L, Lopes R, Paz K, Friedrichi C, Sala M. Hepatotoxicidade De Plantas Mediciniais. XXIII. Ação Da Infusão de *Leonotis nepetaefolia* R. Br. no rato. Investigaçao. 2010; 5(1-6).

[13] White JD, Manchand PS. Structure of nepetaefolin, a prefuranoid diterpene. J. Am. Chem. Soc. 1970; 92(18): 5527-5528.

[14] Purushothaman KK, Vasanth S, Connolly JD, Labbé C. 4, 6, 7-Trimethoxy-5-methylchromen-2-one, a new coumarin from *Leonotis nepetaefolia*. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1976; 23: 2594-2595.

[15] Takeda T, Narukawa Y, Hada N. Studies on the constituents of *Leonotis nepetifolia*. Chem. Pharm. Bull. 1999; 47(2): 284-286.

[16] Li J, Fronczek FR, Ferreira D, Burandt C, Setola V, Roth BL, Zjawlony JK. Bis-spirolabdane diterpenoids from *Leonotis nepetaefolia*. J Nat Prod. 2012; 75 (4), 728-734.

[17] Marrero D, Morales-Rico C, González CL, Canavaciolo VL. Ácidos grasos constituyentes del aceite de las semillas de *Leonotis nepetaefolia* L. Revista CENIC. Ciencias Químicas. 2015; 46: 34-37. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181642434005>

[18] Oliveira AP, Guimarães AL, Da Cruz-Araujo CE, Casanova IC, Pepporine N, Guedes JR. GC-MS analysis of esterified fatty acids obtained from leaves of wild and cultivated specimens of *Leonotis nepetifolia*. J Med Plant Res. 2015; 9(16): 525-530.

[19] Thoppil JE, Jose J. Chromosome architecture and major essential oil constituents in *Leonotis nepetifolia* (L.) Ait. f. from South India. Acta Pharm. 1995; 45(1): 25-28.

[20] Muhayimana A, Chalchat JC, Garry RP. Chemical composition of essential oils of some medicinal

plants from Rwanda. J. Essent. Oil Res. 1998; 10(3): 251-259.

[21] Oyedeji AO, Ekundayo O, König WA. Constituents of the Essential Oil from the Leaves of *Leonotis nepetaefolia* (L.) Ait. f. J. Essent. Oil Res. 1999; 11(6): 716-718.

[22] Rojas L, de Rojas YC, Arzola JC, Usubillaga A. Componentes volátiles de las hojas de *Leonotis nepetifolia* (L.) R. Br., que crece en el Estado Mérida, Venezuela. Ciencia. 2007; 15(3): 357-360.

[23] Adams R. Identification of essential oils components by gas chromatography/ mass spectroscopy. 4th ed. Illinois. USA: Allured Publishing Corporation. Carol Stream; 2007. p. 1-469.

[24] Teles S, Pereira JA, Santos CHB, Menezes RV, Malheiro R, Lucchese AM, Silvaa F. Geographical origin and drying methodology may affect the essential oil of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown, Industrial Crops and Products. 2012; 37: 247-252.

[25] Bruzual VYH, Guzmán WH, Crescente O, Lanza JG. Aceite esencial de *Wedelia calycina* (Asteraceae): composición química, actividad antibacteriana y antifúngica. Saber. 2015; 27(1): 87-93

[26] Utpala P, Asish GR, Saji KV, George JK, Leela NK, Mathew PA. Diversity study of leaf volatile oil constituent of Piper species based on GC/MS and spatial distribution. J. Spices Aromat. Crops. 2014; 23(1): 10-16.

[27] Hernández LD, Rodríguez MJ, García D, Pino AJ. Actividad antidermatofítica en vitro de aceites esenciales. Rev Cubana Plant Med. 2003; 8(2): 0-0.

[28] García AR, Leyva MA, Martínez JR, Stashenko EE. Determinación de la composición química y actividad antioxidante in vitro del aceite esencial de *Piper auritum* Kunth (Piperaceae) difundida en la costa colombiana. Scientia et Técnica. 2007; XIII (033): 439-442.

[29] Nanasombat S, Lohasupthawee P. Antibacterial activity of crude ethanolic extracts and essential oils of spices against Salmonellae and other enterobacteria. Sci Tech J. 2005;5(3): 527-538.